



## REZUMAT AL RAPORTULUI ȘTIINȚIFIC FINAL

PN-III-P1-1.1-PD-2021-0606, Contract Nr. PD 37 / 2022

**Scualenizarea și încapsularea micelară ca metodă alternativă pentru îmbunătățirea eficienței biologice a medicamentelor antitumorale și antimicrobiene (Acronim: Drug-ReSQue)**

**Perioada de implementare (01 aprilie 2022 – 31 mai 2024)**

Detaliile activităților realizate în cadrul perioadei de implementare sunt redate mai jos:

### Planul de realizare al proiectului Drug-ReSQue.

Etapa I (2022)	Activitățile incluse	Rezultate
<p><b>Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de medicamente scuolenizate (metotrexat și citarabină).</b></p> <p><b>Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de nanoterapeutice scuolena PEG-ilată-medicament comercial (metotrexat și citarabină). Testarea <i>in vitro</i> a medicamentelor modificate obținute.</b></p> <p><b>Livrabile:</b></p> <ul style="list-style-type: none"><li>• Raport de cercetare</li><li>• Participarea la o conferință</li></ul>	<b>A1.1.</b> Sinteza aldehidei scuolenice	<b>1 participare la conferință Raport științific pentru etapa I Pagina WEB</b>
	<b>A1.2.</b> Sinteza acidului scuolenic	
	<b>A1.3.</b> Sinteza scuolenei PEG-ilate prin legătură imină sau amidă	
	<b>A1.4.</b> Caracterizarea structurală a aldehidei scuolenice, a acidului scuolenic și a scuolenei PEG-ilate	
	<b>A1.5.</b> Caracterizarea morfologică a derivaților de scuolenă PEG-ilată	
	<b>A1.6.</b> Determinarea concentrației critice micelare a derivaților de scuolenă PEG-ilată	
	<b>A1.7.</b> Sinteza noilor terapeutice prin scuolenizarea medicamentelor comerciale (metotrexat și citarabină)	
	<b>A1.8.</b> Sinteza noilor nanoterapeutice prin încapsularea medicamentelor comerciale (metotrexat și citarabină) în ansamblurile micelare de scuolenă PEG-ilată	
	<b>A1.9.</b> Caracterizarea structurală a medicamentelor (metotrexat și citarabină) scuolenizate	
	<b>A1.10.</b> Determinarea gradului de încapsulare a medicamentelor (metotrexat și citarabină) în nanoansamblurile de scuolenă PEG-ilată	
	<b>A1.11.</b> Caracterizarea morfologică a noilor nanoterapeutice	
	<b>A1.12.</b> Determinarea profilelor de eliberare fiziologică a medicamentelor (metotrexat și citarabină) din nanoterapeutice	
	<b>A1.13.</b> Determinarea <i>in vitro</i> a citotoxicității nanoterapeuticelor obținute pe liniile celulare normale	
	<b>A1.14.</b> Evaluarea eficienței <i>in vitro</i> pe linii celulare tumorale a nanoterapeuticelor obținute	
Etapa II (2023)	Activitățile incluse	Rezultate
<p><b>Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de medicamente scuolenizate (flucitozină și hibridul glicina-curcumină). Design-ul, sinteza și caracterizarea unei serii de nanoterapeutice scuolena PEG-ilată-medicament comercial (flucitozină și hibridul glicina-curcumină). Testarea <i>in vitro</i></b></p>	<b>A2.1.</b> Sinteza aldehidei scuolenice	<b>1 articol științific gold open access publicat la jurnalul Polymers (Q1, IF: 5) 3 participări la conferințe Raport științific pentru etapa II</b>
	<b>A2.2.</b> Sinteza acidului scuolenic	
	<b>A2.3.</b> Sinteza scuolenei PEG-ilate prin legătură imină sau amidă	
	<b>A2.4.</b> Caracterizarea structurală a aldehidei scuolenice, a acidului scuolenic și a scuolenei PEG-ilate	
	<b>A2.5.</b> Caracterizarea morfologică a derivaților de scuolenă PEG-ilată	
	<b>A2.6.</b> Determinarea concentrației critice micelare a derivaților de scuolenă PEG-ilată	
	<b>A2.7.</b> Sinteza noilor terapeutice prin scuolenizarea medicamentelor comerciale (flucitozină și hibridul glicina-curcumină)	



<b><i>in vitro</i> a medicamentelor modificate obținute.</b>  <b>Livrabile:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Raport de cercetare</li><li>• 1 Articol științific Open Access (jurnal ISI Q1 sau Q2, cu factor de impact ridicat)</li><li>• Participarea la 2 conferințe</li></ul>	<b>A2.8.</b> Sinteza noilor nanoterapeutice prin încapsularea medicamentelor comerciale (flucitozină și hibridul glicina-curcumină) în ansamblurile micelare de scuolenă PEG-ilată <b>A2.9.</b> Caracterizarea structurală a medicamentelor (flucitozină și hibridul glicina-curcumină) scuolenizate <b>A2.10.</b> Determinarea gradului de încapsulare a medicamentelor (flucitozină și hibridul glicina-curcumină) în nanoansamblurile de scuolenă PEG-ilată <b>A2.11.</b> Caracterizarea morfologică a noilor nanoterapeutice <b>A2.12.</b> Determinarea profilelor de eliberare fiziologică a medicamentelor (flucitozină și hibridul glicina-curcumină) din nanoterapeutice <b>A2.13.</b> Determinarea <i>in vitro</i> a citotoxicității nanoterapeuticelor obținute pe liniile celulare normale <b>A2.14.</b> Evaluarea activității antimicrobiene <i>in vitro</i> pe diferite culturi microbiene a nanoterapeuticelor obținute	<b>Actualizare Pagina Web a proiectului</b>
<b>Etapa III (2024)</b>	<b>Activitățile incluse</b>	<b>Rezultate</b>
<b>Testarea <i>in vitro</i> a medicamentelor modificate obținute, interpretarea rezultatelor și diseminarea acestora</b>  <b>Livrabile:</b> <ul style="list-style-type: none"><li>• Raport de cercetare.</li><li>• 1 Articol științific (jurnal ISI Q1 sau Q2, cu factor de impact ridicat).</li></ul>	<b>A3.1.</b> Finalizarea testelor antimicrobiene <i>in vitro</i> începute în etapa II  <b>A3.2.</b> Corelarea datelor obținute în etapa II  <b>A3.3.</b> Redactarea unui articol științific pe baza rezultatelor din etapa a II-a	<b>1 articol științific trimis spre publicare la jurnalul <i>Bioconjugate Chemistry</i> (Q2, IF: 4.7) Raport științific final Actualizare Pagina WEB a proiectului</b>

Proiectul **Drug-ReSQue** a fost dedicat obținerii, caracterizării fizico-chimice și evaluării proprietăților biologice unor sisteme nanoterapeutice pe bază de derivați de scuolenă și medicamente comerciale (metotrexat **MTx**, citarabină **Cit**, flucitozină **FLU**, curcumină **CRC** și derivatul acesteia **hCRC**) după cum urmează:

Activitățile de la **A1.1** până la **A1.5** precum și cele de la **A2.1** până la **A2.5** au fost îndeplinite prin sinteza și caracterizarea fizico-chimică a derivaților de scuolenă (aldehida scuolenică **SQ-CHO**, acidul scuolenic **SQ-COOH** și scuolenă PEG-ilată **SQ-PEG**).

La activitățile **A1.6** și **A2.6** au fost realizate studii de determinare a concentrației critice micelare (**CMC**) a **SQ-PEG** iar valorile **CMC** obținute în soluție de PBS cu pH-ul de 7,4 au fost **0,154** și **0,151 mg/mL**.

La activitățile **A1.7** și **A2.7** au fost obținute patru sisteme noi prin scuolenizarea medicamentelor **MTx**, **Cit**, **FLU** și **CRC** (**SQ-MTx**, **SQ-Cit**, **SQ-FLU** și **SQ-CRC**). Obținerea medicamentelor scuolenizate a fost demonstrată prin spectroscopia **RMN** de proton și carbon, prin **FTIR** și **ESI-MS** (**A1.9** și **A2.9**).

La activitățile **A1.8** și **A2.8** au fost obținute cinci sisteme noi prin încapsularea medicamentelor în formațiuni micelare de **SQ-PEG**: **SQ-PEG-(MTx)**, **SQ-PEG-(Cit)**, **SQ-PEG-(FLU)**, **SQ-PEG-(CRC)** și **SQ-PEG-(hCRC)**.

Activitățile **A1.10** și **A2.10** au fost îndeplinite prin determinarea gradului de încapsulare a **MTx**, **Cit**, **FLU**, **CRC** și **hCRC** în structurile micelare de **SQ-PEG** utilizând spectroscopia UV-Vis. Rezultatele obținute au arătat eficiențe de încapsulare de **~54%** (**MTx**), **~45%** (**Cit**), **~83%** (**FLU**), **~91%** (**CRC**) și **~74%** (**hCRC**).



În cadrul activităților **A1.11** și **A2.11** noile nanoterapeutice au fost caracterizate din punct de vedere morfologic prin STEM și DLS, iar rezultatele obținute în urma acestor studii au arătat cele cinci nanoterapeutice obținute au morfologie sferică cu dimensiuni nanometrice și tendințe mici de agregare. Mai mult, prin înregistrarea potențialelor zeta, s-au obținut valori care depind de natura medicamentului încapsulat, astfel nanoterapeuticele obținute cu **MTx** și **Cit** au prezentat valori cuprinse între **-3** și **+3 mV** (stabilitate coloidală scăzută), în timp ce nanoterapeuticele pe bază de **FLU**, **CRC** și **hCRC** au arătat o stabilitate coloidală crescută prin obținerea unor valori între **-25,6** și **-21,86 mV**.

La activitățile **A1.12** și **A2.12** ce a implicat determinarea profilelor de eliberare a medicamentelor în condiții simulate (fiziologice și tumorale), au fost obținute rezultate remarcabile care demonstrează că prin încapsularea medicamentelor în micelle de **SQ-PEG** se obține o eliberare controlată dictată de valoarea pH-ului și a temperaturii în cazul medicamentelor (**MTx** și **Cit**), iar în cazul medicamentelor **FLU**, **CRC** și **hCRC** a fost observată o eliberare prelungită pe parcursul a 72 de ore (condiții fiziologice).

Activitățile **A1.13** și **A1.14** au fost îndeplinite prin realizarea unor studii *in vitro* de citotoxicitate (celule normale) și eficiență anti-tumorală (celule tumorale) a nanoterapeuticilor pe bază de **MTx** și **Cit**. În urma acestor studii a fost demonstrată îmbunătățirea proprietăților biologice a medicamentelor prin încapsularea acestora în micelle de **SQ-PEG**: citotoxicitatea scade iar eficiența anti-tumorală este îmbunătățită pe ambele linii.

Activitățile **A2.13**, **A2.14** și **A3.1** au fost îndeplinite prin realizarea unor studii *in vitro* de citotoxicitate (celule normale HGF) și eficiență anti-bacteriană (pe 10 tulpini de referință) a celor trei nanoterapeutice obținute. De asemenea, și în urma acestor studii a fost demonstrată îmbunătățirea proprietăților biologice prin încapsularea medicamentelor propuse în micelle de **SQ-PEG** astfel: citotoxicitatea scade iar eficiența anti-bacteriană este îmbunătățită în cazul nanoterapeuticului cu **FLU** pe 4 din 5 levuri testate.

Rezultatele obținute în cadrul proiectului Drug-ReSQue în perioada de implementare cuprinsă între 01 aprilie 2022 și 31 mai 2024 au fost diseminate sub forma a trei rapoarte științifice (două intermediare și unul final), o comunicare orală și trei postere prezentate la conferințe naționale și internaționale. De asemenea rezultatele obținute au făcut subiectul a două articole științifice în jurnale ISI Q1 și Q2 cu factor de impact ridicat.



**Participări la conferințe naționale și internaționale:**

**B.F. Craciun, D. Peptanariu, M. Pinteala.** *PEGylated squalene micelles as amphiphilic nano-carrier for in vitro enhanced delivery of methotrexate to MCF-7 tumoral cells. Ediția a XXXVI-a a Conferinței Naționale de Chimie (CNCHIM-2022)*, Călimănești – Căciulata, Vâlcea, Romania, **04-07 Octombrie 2022**;

**B.F. Craciun și M. Pinteala.** *Enhanced in vitro effectiveness of conventional drugs using PEGylated Squalene micelles as nanocarriers. Ediția a 5-a a Conferinței Facultății de Chimie <5-MIT IasiCHEM 2023>*, Iasi, Romania, **26-27 Octombrie 2023**;

**B.F. Craciun și M. Pinteala.** *PEGylated squalene-based nanotherapeutics: enhanced in vitro antitumor activity of commercial drugs. Ediția a 15-a a Conferinței "New Trends in Chemistry Research"*, Timișoara, Romania, **21-22 Septembrie 2023**;

**B.F. Craciun și M. Pinteala.** *Novel nanotherapeutic systems based on PEGylated squalene for improving the in vitro activity of commonly used antitumor drugs. A 25-a ediție a Conferinței Internaționale "Materials, Methods & Technologies 2023"*, Burgas, Bulgaria, **17-20 August 2023**.

**Lucrări științifice în jurnale cotate ISI:**

**B.-F. Craciun\***, I.-A. Sandu, D. Peptanariu, **M. Pinteala\***. *Novel Nanotherapeutic Systems Based on PEGylated Squalene Micelles for Enhanced In Vitro Activity of Methotrexate and Cytarabine. Polymers 2023*, 15, 4225. <https://doi.org/10.3390/polym15214225> (Gold OA) (**IF = 5.0, Q1**).

**B.-F. Craciun\***, I. Rosca, D. Peptanariu, **M. Pinteala**. *Enhancing the flucytosine antifungal efficiency by encapsulation into PEGylated squalene micellar nanocarrier. Bioconjugate Chemistry 2024, In evaluare*, ID Manuscris: **bc-2024-00237n**. (**IF = 4.7, Q2**).

**Mai multe informații se regăsesc pe pagina web a proiectului Drug-ReSQue:**

<https://icmpp.ro/projects/11/about.php?id=49>